

Publication number: **JP11335267 (A)**

Publication date: 1999-12-07

Inventor(s): NAKATOMI ICHIRO; SAKURAI YASUHIISA; OKANO MITSUO; YOKOYAMA MASA YUKI; KATAOKA KAZUNORI
±

Applicant(s): NANO CAREER KK ±

Classification:

- international: A61K47/34; A61K9/127; A61K9/51; A61K47/34; A61K9/51; (IPC1-7): A61K47/34; A61K9/127

- European: A61K9/51

Application number: **JP19980161494 19980527**

Priority number(s): **JP19980161494 19980527**

[View INPADOC patent family](#)

[View list of citing documents](#)

[Return a defective page.](#)

Abstract of **JP 11335267 (A)**

[Translate this text](#)

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain polymer micelles practically excluding polymer micelles flocculated each other by mixing a specific copolymer and a sparingly water soluble medicine in a water miscible solvent, dialyzing through a dialysis membrane to water, sonicating to enable effectively enclosing sparingly water soluble medicine in polymer micelles. **SOLUTION:** This polymer micelles is obtained by mixing (A) in the organic water miscible solvent such as dimethylformamide or the like, (B) the block copolymer having a hydrophobic polymer segment and a polyoxyethylene segment as the hydrophilic polymer segment, and (C) the sparingly water soluble medicine(preferably, camptothecin or the like), forming polymer micelles including medicine by dialyzing the mixture into water through the dialysis membrane, then sonicating the solution or dispersion including the polymer micelles. The component (B) is preferably a polymer expressed by formula (R1 is H or the like; R2 is H or the like; L1 is -NH- or the like; R is H or the like; n is 4 to 2,500; x+y is 2 to 300) or the like.



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-335267

(43) 公開日 平成11年(1999)12月7日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	F I	
A 6 1 K 9/127		A 6 1 K 9/127	C
			F
47/34		47/34	H
審査請求 未請求 請求項の数 7 F D (全 11 頁)			
(21) 出願番号 特願平10-161494		(71) 出願人 597144679 ナノキャリア株式会社 東京都世田谷区用賀 4-5-16	
(22) 出願日 平成10年(1998) 5月27日		(72) 発明者 中冨 一郎 東京都世田谷区用賀 4-5-16 T Eビル 1 F	
特許法第30条第 1 項適用申請有り 1997年12月 6 日～12月 7 日 日本バイオマテリアル学会開催の「第19回日本バイオマテリアル学会大会」において文書をもって発表		(72) 発明者 桜井 靖久 東京都杉並区永福 3-17-6	
		(72) 発明者 岡野 光夫 千葉県市川市国府台 6-12-12	
		(74) 代理人 弁理士 小田島 平吉 (外 2 名)	
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 水難溶性薬物を含有するポリマーミセル系

(57) 【要約】

【課題】 水難溶性薬物を封入したポリマーミセルの調製方法およびそのようなポリマーミセルを含む組成物。

【解決手段】 ポリオキシエチレンセグメントを有する親-疎水性ブロックコポリマーを用いる薬物含有ポリマーミセルの調製方法であって、水混和性の有機溶媒中で、ポリマーと薬物を混合し、次いで透析し、さらに超音波照射にかける方法。および、このような方法で得ることのできる水難溶性薬物を封入したポリマーミセル組成物。

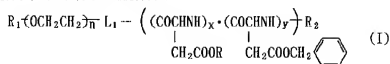
【特許請求の範囲】

【請求項1】 水難溶性薬物が親水性ポリマーセグメントと疎水性ポリマーセグメントを有するブロックコポリマーのポリマーミセルのコアに主として存在する薬物含有ポリマーミセル組成物の調製方法であって、(A)水混和性有機溶媒中で、親水性ポリマーセグメントとしてポリオキシエチレンセグメントを有するブロックコポリマーと水難溶性薬物を混合し、(B)得られた混合物を

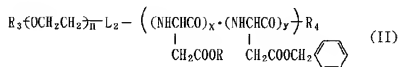
透析膜を介して水に透析することにより薬物含有ポリマーミセルを形成し、そして(C)該薬物含有ポリマーミセルを含む溶液または分散液を超音波処理する、ことを特徴とする薬物含有ポリマーミセル組成物の調製方法。

【請求項2】 ポリオキシエチレンセグメントを有するブロックコポリマーが、下記式(I)または(II)

【化1】



または



〔上記各式中R₁及びR₃は、それぞれ水素原子または低級アルキル基を表し、

R₂は水素原子、飽和もしくは不飽和のC₁〜₂₃脂肪酸カルボニル基またはアリールカルボニル基を表し、

R₄は水酸基、飽和もしくは不飽和のC₁〜₃₆脂肪酸オキシ基またはアリール低級アルキルオキシ基を表し、

L₁は、-NH-、-O-および-OCO-Z-NH-（ここで、ZはC₁〜₄アルキレン基である）からなる群より選ばれる連結基を表し、

L₂は、-OCO-Z-CO-および-NHCO-Z-CO-（ここで、ZはC₁〜₄アルキレン基である）の連結基を表し、

Rは、水素原子または飽和もしくは不飽和のC₁〜₃₆脂肪酸基を表し、

nは4〜2500の整数であり、

xおよびyは、同一もしくは異なり、それらの合計が2

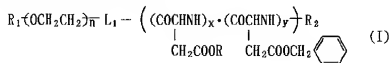
〜300となる整数であり、そしてxおよびyを付した単位は、それらの単位が存在する場合には、それぞれランダムに存在するか、またはブロックを形成して存在することができると表される、請求項1記載の調製方法。

【請求項3】 ポリオキシエチレンセグメントを有するブロックコポリマーが、式(I)で表され、そしてxが0であるか、あるいはxおよびyを付した単位がともに存在する場合には、それぞれランダムに存在するものである請求項1または2記載の調製方法。

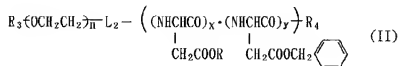
【請求項4】 水難溶性薬物がKR N5500、タキソールおよびカンプトテンならびにそれらの水難溶性誘導体からなる群より選ばれる請求項1〜3のいずれかに記載の調製方法。

【請求項5】 下記式(I)または(II)

【化2】



または



〔上記各式中R₁及びR₃は、それぞれ水素原子または低級アルキル基を表し、

R₂は水素原子、飽和もしくは不飽和のC₁〜₂₃脂肪酸カルボニル基またはアリールカルボニル基を表し、

R₄は水酸基、飽和もしくは不飽和のC₁〜₃₆脂肪酸オキシ基またはアリール低級アルキルオキシ基を表し、

L₁は、-NH-、-O-および-OCO-Z-NH-（ここで、ZはC₁〜₄アルキレン基である）からなる群より選ばれる連結基を表し、

L₂は、-OCO-Z-CO-および-NHCO-Z-CO-（ここで、ZはC₁〜₄アルキレン基である）の連結基を表し、

Rは、水素原子または飽和もしくは不飽和の $C_{1\sim 30}$ 脂肪族基を表し、

nは4～2500の整数であり、

xおよびyは、同一もしくは異なる、それらの合計が2～300となる整数であり、そしてxおよびyを付した単位は、それらの単位がともに存在する場合には、それぞれランダムに存在するか、またはブロックを形成して存在することができる」で表されるブロックコポリマーに由来するポリマーミセル中に水難溶性薬物が封入された薬物含有ポリマーミセルであって、実質的に相互に凝集していない薬物含有ポリマーミセルのみを含んでなるか、或いは薬物がKR N5500、タキソールおよびカンプトテシンならびにそれらの水難溶性誘導体からなる群より選ばれる薬物含有ポリマーミセルを含んでなるポリマーミセル組成物。

【請求項6】 ブロックコポリマーが式(Ⅰ)で表され、xおよびyがそれぞれランダムに存在するものである請求項5記載の組成物。

【請求項7】 ブロックコポリマーが式(Ⅰ)で表わされ、かつ式(Ⅰ)中の 1_1 が $-NH-$ であり、nが50～1500の整数であり、xおよびyの合計が5～500の整数である請求項5または6記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、水難溶性薬物を含むポリマーミセル系に関し、より具体的には、実質的に相互に凝集したポリマーミセルを含まない薬物含有ポリマーミセル組成物の調製方法及びかかる組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】水難溶性または疎水性の薬物の生物学的利用能を高めるべく、薬物をリポソームやポリマーミセル中に封入した系が知られている。これらのうち、親水性ポリマーセグメントと疎水性ポリマーセグメントを有するブロックコポリマーを用い、疎水性ポリマーセグメントと薬物との疎水性結合形成能を始とする相互作用を介して薬物を該ポリマーのミセル中に封入する方法は、広範な薬物への適用が可能であり、しかもサブミクロンの非常に小さな、薬物含有ポリマーミセルを提供できることから、特に興味深い。

【0003】本発明者らの一部も、親水性ポリマーセグメントとして、ポリオキシエチレンセグメントを有し、疎水性ポリマーセグメントとしてポリ- α -アミノ酸セグメントを有するブロックコポリマーが、疎水性薬物の封入に適する薬物担持用担体として有用であることを見出し、かかる担体それ自体およびそれらから形成されるポリマーミセル中に多種多様な薬物を封入した薬物含有ポリマーミセルを提供した(例えば、特開平6-107565号公報または米国特許第5,449,513号明細書参照)。かかる薬物担持用担体は、一定の疎

水性薬物、特に、抗ガン剤、アドリアマイシン(ドキシルビシン)、ダウノマイシン(ダウノルビシン)、メソトレキセート、マイトマイシンC等を効率よく封入することができると注目している。

【0004】しかしながら、例えば、酸性水に対して溶解性が高まるアドリアマイシンとは異なり、pHの変動等にかかわらず、実質的に水に溶解しないような水難溶性薬物を上記薬物担持用担体のポリマーミセル中に封入する場合には、薬物含有ミセル相互間で凝集または会合する可能性があり、目的とする大きさの薬物含有ポリマーミセルを効率よく調製できない場合がある。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】したがって、本発明の目的は、上記特開平6-107565号公報およびその他の先行技術文献に記載の手段により、ある程度良好に封入しうる疎水性薬物だけでなく、さらに水に実質的に不溶性の水難溶性薬物をも効率よくポリマーミセル中に封入しうる手段を提供することにある。

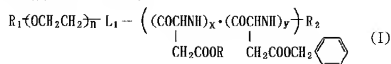
【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、それ自体既知のポリマーミセル形成性ブロックコポリマーまたはそれらの修飾ポリマーを用いて、例えば上記のアドリアマイシン等より遥かに水に水難溶性である、KR N5500(6-[4-デオキシ-4-[(2E, 4E)-シクロヘキサ-2,4-ジエノイル]グリル]アミノ-1,3-ジヒドロ-2H-ピリジン-2-オン)やスピカマジン(spicamycin)の脂質膜鎖を有する半合成誘導体)を特定の有機溶媒中でポリマーミセルを形成させる工程、次いで超音波処理工程を実施すると、効率よく所望の薬物含有ポリマーミセルを提供できることを見出した。また、本発明者らは、該ブロックコポリマーの修飾も、薬物のポリマーミセル中への封入効率やポリマーミセルサイズを制御することも見出した。さらにまた、KR N5500のような実質的に水不溶性のものに限定されことなく、従来の方法によりある程度効率よくポリマーミセルに封入することのできた水難溶性(KR N5500程水難性ではないが、いまだ水難溶性または疎水性といえるような)薬物に適用した場合でも上記のような作用効果が得られることを見出した。

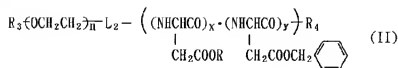
【0007】したがって、本発明によれば、水難溶性薬物が親水性ポリマーセグメントと疎水性ポリマーセグメントを有するブロックコポリマーのポリマーミセルのコアに主として存在する薬物含有ポリマーミセル組成物の調製方法であって、(A)水混和性有機溶媒中で、親水性ポリマーセグメントとしてポリオキシエチレンセグメントを有するブロックコポリマーと水難溶性薬物を混合し、(B)得られた混合物を透析膜を介して水に透析することにより薬物含有ポリマーミセルを形成し、そして(C)該薬物含有ポリマーミセルを含む溶液または分散

液を超音波処理する、ことを特徴とする薬物含有ポリマーミセル組成物の調製方法が提供される。

【0008】上記親水性ポリマーセグメントとしてポリオキシエチレンセグメントを有するブロックコポリマー



または



【0010】[上記各式中 R_1 及び R_3 は、それぞれ水素原子または低級アルキル基を表し、 R_2 は水素原子、飽和もしくは不飽和の $C_1 \sim C_8$ 脂肪族カルボニル基またはアリールカルボニル基を表し、 R_4 は水酸基、飽和もしくは不飽和の $C_1 \sim C_8$ 脂肪族オキシ基またはアリール低級アルキルオキシ基を表し、 L_1 は、 $-NH-$ 、 $-O-$ および $-OCO-Z-NH-$ （ここで、 Z は $C_1 \sim C_4$ アルキレン基である）からなる群より選ばれる連結基を表し、 L_2 は、 $-OCO-Z-CO-$ および $-NHCO-Z-CO-$ （ここで、 Z は $C_1 \sim C_4$ アルキレン基である）の連結基を表し、 R は、水素原子または飽和もしくは不飽和の $C_1 \sim C_8$ 脂肪族基を表し、 n は4～2500の整数であり、 x および y は、同一もしくは異なり、それらの合計が2～300となる整数であり、そして x および y を付した単位は、それらの単位がともに存在する場合には、それぞれランダムに存在するか、またはブロックを形成して存在することができる]で表されるブロックコポリマーは、特に上記調製方法に好適に用いることができる。こうして調製される薬物含有ポリマーミセルが、相互に凝集したものを実質的に伴うことなく（含んだとしても、最大10%までである）薬物含有ポリマーミセルのみからなるか、或いは薬物として、 $KR N 5500$ 、タキソールおよびカンプトテシンならびにそれらの水溶性誘導体からなる群より選ばれる薬物を効率よくポリマーミセル中に有しており、かつ物理的に安定であるので、かような薬物含有ポリマーミセルを含む組成物の提供も可能となる。したがって、かような組成物自体も本発明のもう一つの態様として提供される。

【0011】

【発明の具体的な態様】本発明の調製方法に用いることのできるブロックコポリマーは、親水性ポリマーセグメントとしてポリオキシエチレンセグメントを有するブロックコポリマーであって、本発明の目的（すなわち水溶性薬物を本発明の調製方法に従って、所望の特性を有する薬物含有ポリマーミセル組成物を提供できる）を達成できる如何なるポリマーも包含する。具体的には、限

のうち、下記式（I）または（II）

【0009】

【化3】

定されるものでない上記式（I）または（II）で表されるブロックコポリマーを始めとし、上記特開平6-107565号公報に記載されるものや、ポリオキシエチレンセグメントとポリプロピレンオキシセグメントからなる米国特許第5,698,529号明細書に記載されるようなものも本発明というブロックコポリマーに包含される。なお、本明細書で用いる、「ポリマーセグメント」または接頭辞「ポリ」の語は、本発明の目的に沿う限り、オリゴマーまたはオリゴの意を包含する概念で用いている。

【0012】かようなブロックコポリマーを用いて、ポリマーミセル中に封入される水溶性薬物は、該ポリマーミセル中に封入することで、薬物の生物学的利用能（バイオアベイラビリティ）を高める如何なる薬物をも包含し、後述する抗癌剤のような薬効により限定されるものでなく、またステロイド（例、コルチゾン、テストステロン等）、アルカロイド（例、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン等）、ペプチド（例、インスリン、カルシトニン等）、その他の水溶性または疎水性化合物等の化合物の種類によっても限定されるものでない。しかしながら、上記調製方法によれば、サブミクロン、より具体的に数十nm～数百nmの直径を有する薬物含有ポリマーミセルを効率よく調製することができること、ならびにかような大きさのポリマーミセルは腎排泄と網内皮細胞系による非特異的な捕捉とを回避しうる可能性があること（例えば、L. W. Seymourら、J. Biomed. Mater. Res., 2, 1 (1987), 1341-1358、D. C. Litzingerら、Biochim. Biophys. Acta, 1190, 99-107 (1994) 参照）、また、ポリオキシエチレンセグメントがポリマーミセルのシェルを形成するあるブロックコポリマーは薬物を高い選択性で固型腫瘍部位へ送達しうる（例えば、G. S. Kwonら、J. Contr. Rel., 29 (1994) 17-23参照）可能性があること等を考慮すれば、上記薬物として、特に水溶性または疎水性の抗

腫瘍性薬物を好適なものとして挙げることができる。かような抗腫瘍性薬物としては、限定されるものでないが、アドリアマイシン、ダウノマイシン、メソトレキセート、マイトマイシンC、KRN5500、タキソール(taxol)、カンプトテシン(camptothecin: 4-エチル-4'-ヒドロキシ-11-ヒピラノ[3', 4': 6, 7]インドリジノ[1, 2-b]キノリン-3, 14[4H, 12H])ジオン)等、およびこれらの水難溶性誘導体が挙げられる。本発明の調製方法により特に都合よく用いることのできる薬物は、従来法では、必ずしも効率よく薬物含有ポリマーミセル組成物を調製することができなかった、KRN5500、タキソール、カンプトテシンを挙げることができる。

【0013】本発明にいう組成物とは、薬物含有ポリマーミセルを含有する如何なる組成物をも包含し、通常、該ポリマーミセルを含有する水性媒体(例えば、滅菌水、生理食塩水)または乳糖などの糖類を含めた液状物もしくは凍結乾燥物等を意味する。これらの組成物は、本発明の調製方法により得られたポリマーミセルをそれ自体既知の処方により、場合によって医薬調剤の調製に常用されている賦形剤、希釈剤等を用いて調製することができる。

【0014】本発明の調製方法で、使用しうる水混和性有機溶媒は、ポリマーミセルに封入される薬物の種類によって最適のものが変化するが、少なくとも、上記ブロックコポリマーと薬物を溶解ないし均質に分散できる有機溶媒、例えば、ジメチルホルムアミド(DMF)、ジメチルスルホキシド(DMSO)、アセトニトリル、テトラヒドロフラン(THF)等の極性溶媒である。これらの溶媒は、薬物の溶解性に悪影響を及ぼさない範囲、例えば、50[容量/容量%]まで水を含みうるが、水が5[容量/容量%]以下のものが好ましく、さらに実質的に水を加えていないものがより好ましい。「実質的に水を加えていない」とは、これらの溶媒の工業的グレードまたは試薬グレードに水を意図的に加えていないことを意味する。したがって、「実質的に水を加えていない」溶媒とは、絶対的な非水溶媒系であることに限定されるものでない。

【0015】かような溶媒中での上記ブロックコポリマーと薬物の混合は、それぞれ別個にブロックコポリマー含有液と薬物含有液を用意しておき、それらを混合するか、あるいは、溶媒にブロックコポリマーと薬物を同時に、または順次加えた後に混合してもよい。混合は、振盪、機械的攪拌や超音波処理により行うことができる。混合される薬物とブロックコポリマーの好適な含有比率は、使用する溶媒、薬物およびブロックコポリマーに応じて変動しうるが、通常、ブロックコポリマーに対する薬物の比率は、重量基準で、1~300%、好ましくは5~50%、特に好ましくは5~30%である。混合液中の薬物およびブロックコポリマーの濃度は、それらが

使用され溶媒中で溶解または均質な状態で存在しうる濃度であることができるが、通常、ブロックコポリマーについて、0.01~40(重量/容量)%, 好ましくは0.05~25(重量/容量)%特に好ましくは0.1~10(重量/容量)%である。混合処理は、混合液が液体状であって、薬物を不活化しない温度であれば、如何なる温度であってもよいが、通常、-5℃~60℃、好ましくは室温付近(15~25℃)において、混合液が均質な状態になる時間、をかけて行う。

【0016】こうして調製した混合液は、次いで、透析膜を介し水に対して透析する。透析膜は、形成された薬物含有ポリマーミセルを使用された原料、溶媒、薬物およびブロックコポリマー等から効率よく分離できるものであれば、材質および細孔の大きさ等により限定されない。しかしながら、通常、使用されるブロックコポリマーの分子量に等しいか、それより大きい分子量の分離(カットオフ)能を有するセルロース系の透析膜を使用することが好ましい。この処理は、上記混合処理温度と同様の温度下で、少なくとも5時間行うことが好ましい。

【0017】上記透析後の薬物含有ポリマーミセルを含む水性分散液を、次に、超音波処理にかけ、超音波処理は、通常、細胞等の破壊等に常用されているプロープ式のソニケーター(sonicator)を使用し行うのが好都合である。一般に、上記分散液を氷浴下(約4℃)で行うことが好ましいが、薬物含有ポリマーミセルに悪影響を及ぼさない温度であれば、如何なる温度であってもよい。処理時間は、照射する音波の強度等により変動するが、分散液中に存在する薬物含有ミセルが目的とする大きさ、通常、ミセルの平均直径が1μm未満、好ましくは800nm以下、あるいはミセル間で会合した状態のものが存在しなくなるのに十分な時間を選ぶ。例えば、プロープ式ソニケーターの標準的な6mmプローブを備えたモデルVC100(Sonics & Materials Inc., Connecticut, USA)を用いる場合、1秒間音波照射と1秒間静置のサイクルで、数10秒~12時間、好ましくは1~180分間の超音波処理を行う。

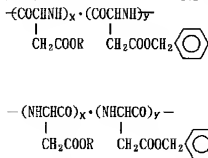
【0018】こうして得られる薬物含有ポリマーミセルは、透析処理により形成される可能性のあるミセルどうしが会合した状態にある会合(凝集)ミセルを実質的に含まず、各ミセルが独立に分離した状態で混合液中に存在する。これらの分離した状態で存在するミセルは、熱力学的に安定であるため、通常の保存条件下では、実質的に相互に会合ミセルを形成しないし、凝集も起こらない。したがって、ミセルの径が有意に狭い分布をもつミセル混合物を提供できる。

【0019】以上のように、本発明に従う調製方法は、例えば、特開平6-107569号公報に記載されるような「加温処理、超音波照射処理または有機溶媒処

理」とは明確に区別でき、またそれらからは予断できなかった作用効果を奏する。

【0020】上記薬物含有ポリマーミセルを形成するのに特に適するブロックポリマーは、上記(Ⅰ)または(Ⅱ)で表される。これらの式(Ⅰ)または(Ⅱ)で表されるブロックポリマーを用い、上記薬物含有ポリマーの調製方法で得ることのできるポリマーミセル組成物は、該ポリマーミセルが相互に会合しない凝集していない(または、ミセルのコアが単一のほぼ球形を有する)もののみからなるか、或いは薬物がKRN5500、タキソールおよびカンプトテシンならびにそれらの水難溶性誘導体であることに特徴があり、それ自体、先行技術文献に未載であり、新規なものである。

【0021】式(Ⅰ)および(Ⅱ)で表されるブロッ



または

【0024】部は、xまたはyのいずれか一方が存在しない(整数0である)か、あるいはxおよびyは両者とも整数0以外の正数であることができる。

【0025】上記式中の、Rは上述したとおり、ポリマーミセルに封入する薬物に応じて、水素原子または飽和もしくは不飽和の C_{1-9} 脂肪族基であることができる。飽和の C_{1-9} 脂肪族基としては、直鎖もしくは分枝のアルキル基を挙げることができ、例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、n-ブチル、n-ヘプチル、n-ヘキシル等の低級アルキル基であるか、或いは、炭素原子数が30〔トリアコンチル(もしくはミリシル)〕までの直鎖もしくは分枝の中ないし高級アルキル基である。中級ないし高級アルキル基の例としては、限定されるものでないが、オクチル、デカニル、ラウリル、ミリスチル、セチル、14-メチルヘキサデカニル、16-メチルオクタデカニル、ドコシル、テトラコシル、ヘキサコシル、およびミリスチル等を挙げることができる。上記のようなKRN5500と組み合わせる用い、xが整数0以外の場合には、Rは水素原子以外であり中級もしくは高級アルキル基であることが好ましい。また、不飽和の脂肪族基としては炭素原子数が2以上であり、ドデセル(C_{12})、フィセチル(C_{14})、ゾーマリル(C_{16})、オレイル(C_{18})、カタドニル(C_{20})、等を挙げることができる。これらの脂肪族基の説明は、 R_4 を定義する C_{1-9} 脂肪族アルキル基の脂肪族部分にも共通する。また、アリール-低級アルキルオキシ基という、アリール低級アルキルとしては、フェ

ニコポリマーは、それぞれの式で特定され、本目的に沿うものであれば、如何なるものであってもよいが、最適なもの、使用する薬物との組み合わせに応じて変動しうる。例えば、薬物が、KRN5500のように長鎖脂肪族基を有する場合には、ポリマーミセルのコア形成性セグメントに相当するポリマー部に、長鎖脂肪族基を有するものが好ましいであろう。すなわち、該コア形成性セグメントに相当するポリマー部を修飾することにより、薬物の封入特性(例えば、薬物とコア部との親和性)やポリマーミセルの径等を制御しうる場合がある。

【0022】したがって、式(Ⅰ)および(Ⅱ)における、

【0023】

【化4】

ニルメチル(ベンジル)、フェニルエチル(フェネチル)等が挙げられる。

【0026】 R_1 および R_2 は、水素原子または低級アルキル基であることができる。

【0027】 R_2 は水素原子または上記 C_{1-9} 脂肪族基に対応するアシル基、あるいはアリールカルボニル基(例、ベンゾイル)であることができる。アシル基の具体的なものとしては、アセチル、プロピオニル、イソプロピオニル、デカノイル、ドデカノイル(ラウリル)、テトラデカノイル(ミリスチル)、ヘキサデカノイル(パルミチル)、オクタデカノイル、9, 12-オクタデカジエノイル(リノリル)、イコサノイル(アラキドニル)等を挙げることができる。

【0028】 L_1 および L_2 は、一般的に、式(Ⅰ)および(Ⅱ)のブロックポリマーの製造方法によって、自由に変わりうる連結基である。式(Ⅰ)の L_1 が-NH-、-O-または-O-CO-Z-NH-であるポリマーは、例えば、ポリオキシエチレンセグメントをアニオン-リビング重合により形成した後、 ω -末端の水酸基をアミノ基または-O-CO-Z-NH $_2$ 基(Zは、 C_{1-4} アルキル基である)に転化した後、 β -ベンジルアスパルテートのN-カルボン酸無水物を用いる二酸化炭素脱離重合法(所謂、NCA法)により、 α -アミノ酸鎖を上記アミノ基を介して伸長させた場合に行うことができる。同様に L_1 が-O-のポリマーは、ポリオキシエチレンセグメントをアニオン-リビング重合法によって形成し、その ω -末端にホリアミノ酸セグメント

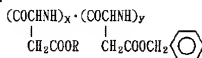
をNCA法により伸長させるか、あるいはNCA法により別途に製造したポリ-β-ベンジルアスパルテートと、ポリオキシエチレンとの縮合による得られるものを挙げる事ができる。

【0029】式(Ⅰ)で表されるブロックコポリマーは、通常、ポリオキシエチレンとポリ-β-ベンジルアスパルテートを個別に製造した後、それらをポリオキシエチレンのω-末端をカルボキシル基に転化するが、必要により、C₁~C₆のアルケンジカルボン酸のを介してカルボキシル基とポリアミノ酸のN-末端アミノ基を連結することにより提供できるものを挙げる事ができる。

【0030】また、上記のxまたはyを付した、例えば、式(Ⅰ)における、

【0031】

【化5】



【0032】部分と式(Ⅰ)の対応する部分は、xおよびyがともに存在する場合には、それらはランダムまたはブロックを形成した状態で存在しうる。

【0033】ランダムな状態で存在する場合には、ポリ-β-ベンジルアスパルテート部分を形成した後、ベンジル基を部分加水分解するか、またはベンジル基の一部を他のアシル基とエステル交換することによって提供できる。このエステル交換反応は、酸触媒の存在下でRに相当するC₁~C₃アルコールで上記ポリ-β-ベンジルアスパルテートセグメントを有するブロックコポリマーを処理することにより、行うことができる。別法として、β-ベンジルアスパルテートとβ-アシル(ベンジル以外)アスパルテートのN-カルボン酸無水物を混合した状態でNCA法を実施することにより、製造することもできる。

【0034】一方、ブロックを形成した状態で存在する場合には、例えばNCA法により、x部分またはy部分のセグメントを形成した後、次いでy部分またはx部分のセグメントを形成することにより、目的とするブロックコポリマーを提供できる。以上のようなブロックコポリマーにおけるn、xおよびyは、本発明の目的を達成しうるブロックコポリマーを提供するものであれば、いずれの整数であることもできる。しかしながら、通常、nは4~2500の整数であり、より好ましくは50~1500整数である。一方、xおよびyは、いずれか一方が0であることができるが、その場合xが0であるこ

とが好ましい。また、xおよびyは、同一または異なり、合計が2~300、好ましくは5~50の整数であることができる。この際、x対yの比は、如何なる値をとってもよいが、例えば、1:7~7:1の値をとることができる。

【0035】以上のような、式(Ⅰ)および(Ⅰ)のブロックコポリマーのうち、製造の容易性からは、式(Ⅰ)のものが都合よく使用でき、特に、かようなブロックコポリマーとKRNS500、タキソールおよびカンブトデシンならびにそれらの水溶性誘導体からなる群より選ばれる薬物の組み合わせ使用が、好ましいものである。また、式(Ⅰ)のRが中級ないしは高級脂肪基基であって、xおよびyの両者が0以上の正数であるもの、ならびにxが0であるものと、上記薬物との組み合わせに係る薬物含有ポリマーミセルを含んでなる組成物が特に好ましい。なお、上記水溶性誘導体は、KRNS500、タキソールおよびカンブトデシンとほぼ近似する水に対する溶解度を有する如何なる誘導体も包含する。

【0036】こうして提供される薬物含有ポリマーミセルを含んでなる組成物は、ポリマーミセルが1μm以上の径を有するものを含まず、平均径が約数10nm~800nmがあり、かつ通常の状態(例えば、注射液等に分散した状態)で極めて安定であり、ミセル相互間での会合または凝集が殆ど生じない。また、かような大きさのミセルは、上述したように、腎性排出や網内皮細胞系による非特異的な捕捉を避けることができるので薬物の高度な利用効率が可能である。

【0037】かような薬物含有ミセルを含んでなる組成物は、薬物に応じて、経口投与用製剤または非経口投与用製剤とすることができるが、非経口投与用製剤とする場合に、特に有利である。非経口投与用製剤、例えば注射剤とする場合には、血液に対して等張性となるように、必要により、塩および糖類その他の化合物を加えて、医薬製剤で常用されている液状希釈剤、例えば、水、エチルアルコールまたはプロピレングリコール中に上記薬物含有ポリマーミセルを配合し、さらに必要により、沈殿防止剤、例えば、エトキシ化イソステアリアルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトール等を配合して調整できる。

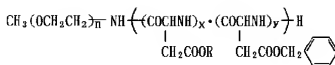
【0038】

【実施例】以下、具体例を挙げて本発明をさらに具体的に説明するが、これらに本発明の範囲を限定することを意図するものでない。

【0039】例1: ブロックコポリマーの製造

【0040】

【化6】



(R=H、C₁₆H₃₃)

【0041】特開平6-107565号公報の実施例1またはM. Yokoyamaら、Bioconjugate Chem., 3 (1992) 295-301に記載の方法に従って製造し、ポリ(β-ベンジル-L-アスパルテート)セグメント(以下、PBLA鎖ともいう)のフェニルプロトンとポリ(オキシエチレン)セグメント(以下、PEG鎖ともいう)のメチレンプロトンの¹H-NMR測定により、PBLA鎖およびPEG鎖の分子量が、それぞれ約3,500および約12,000であるブロックコポリマー(以下、PEG-PBLAともいう)を用意した。

【0042】(1)部分加水分解

上記PEG-PBLA(1.00g)をクロロホルム10mlに溶解した。次いで、水、メタノールおよび2-プロパノール(容量比1:2:2)の混合液中NaOH溶液(0.43N)1.5mlを加えた。15分間、0℃で激しく攪拌し、次いで、上記溶液に水酢酸200μlを加えて中和した後、反応混合物をジエチルエーテル100ml中に注ぎ込み、沈殿物を生じさせた。沈殿物を濾取し、蒸留水10mlに溶解した。こうして得られた溶液に濃塩酸水溶液(1.2N)0.6mlを加え、次いでスペクトラポア(Spectrapor)3透析膜(分子量カットオフ=3,500)を用い、0.1N HCl水溶液に対して3時間、さらに蒸留水に対して一夜透析した。次いで、透析バッグ中のポリマーを凍結乾燥して、0.55gの部分加水分解されたブロックコポリマー[上記R=H、以下、PEG-P(Asp, BLA)ともいう]を得た。

【0043】(2)セチルアルコールによるエステル交

換

フラスコ中にPEG-PBLA(2.00g)、セチルアルコール(1.06g)およびp-トルエンスルホン酸-水合物(200mg)を入れ、次いでトルエン40mlを加えた。この溶液を攪拌しながら、24時間、80℃で加熱した。反応液をジエチルエーテル400ml中に注ぎ込んだ。生じた沈殿をジエチルエーテルで洗浄し、次いで減圧下で乾燥した。こうして、PEG-PBLAのベンジル基が部分的にセチル基で交換されたブロックコポリマー[上記R=C₁₆H₃₃、以下、PEG-P(C₁₆, BLA)ともいう]1.77gが得られた。

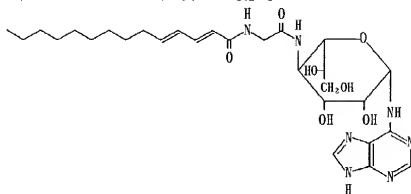
【0044】なお、PEG-P(Asp, BLA)およびPEG-P(C₁₆, BLA)におけるBLA単位の含有量は、これらのブロックコポリマーのBLA単位の完全アルカリ加水分解することにより生じるベンジルアルコールの吸光度を257.5nmにて測定し、未処理PEG-PBLAのベンジルアルコール含有量と対比することにより決定することができる。

【0045】結果：上記(1)により得られた、PEG-P(Asp, BLA)の式(1)のxおよびyの換算値は、それぞれ9.5および7.4であり、そして上記(2)により得られた、PEG-P(C₁₆, BLA)の同xおよびyの換算値は、それぞれ4.1および12.8であった。

【0046】例2：ポリマーミセル中へのKRN5500の封入(透析)
KRN5500:

【0047】

【化7】



【0048】透析は、G. S. Kwonら、Pharm. Res., 12 (1995) 192-195に記載の方法に従って行った。概述すれば、次のとおりである。各ブロックコポリマーを、N、N'-ジメチルホルム

アミド(DMF)またはジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解した溶液を、別にそれらの溶媒にそれぞれKRN5500を溶解した溶液と混合した。混合は室温で10分間攪拌して行った。次に、セルロース透析膜(分

子量カットオフ=12,000~14,000)を用い、蒸留水に対して一夜透析した。

【0049】(1)使用したブロックコポリマーは、上記PEG-PBLA、PEG-P(Asp, BLA)およびPEG-P(C₁₆, BLA)であった。一方、これらのブロックコポリマーに対するKRN5500の使用

割合は、重量基準で30%となるように調節した。透析後の透析バッグ中の残存物の状態は、次の表1に示すとおりであった。

【0050】

【表1】

表 1

実験 No.	ブロックコポリマー	(mg)	KRN5500 (mg)	溶媒	状態
1	PEG-PBLA	5.0	1.5	DMF	沈殿
2	PEG-PBLA	5.0	1.5	DMSO	沈殿
3	PEG-P(Asp, BLA)	5.0	1.5	DMF	沈殿
4	PEG-P(Asp, BLA)	5.0	1.5	DMSO	沈殿
5	PEG-P(C ₁₆ , BLA)	5.0	1.5	DMF	沈殿
6	PEG-P(C ₁₆ , BLA)	5.0	1.5	DMSO	均質

【0051】表1の実験No. 6の均質液はほんのわずかな不透明性を示すだけであった。すなわち、特に、この実験系によれば、ポリマーミセル中への効率的な薬物の取込み(または封入)により、KRN5500の水への溶解度が著しく高まるものとみなせる。

【0052】(2)ブロックコポリマーに対するKRN5500の使用割合を10重量%とし、2種のブロック

コポリマーを用いて上記の透析による封入実験を行った。なお、透析後、溶液を5℃透過膜(細孔の大きき約1 μ m)で透過し、動的光散乱法によりキュムラントの平均粒径と分散指数(dispersion index)を測定した。結果を表2に示す。

【0053】

【表2】

表 2

実験 No.	ブロックコポリマー	溶媒	収率 ¹⁾ (%)	直径 ¹⁾ (nm)	分散指数 ²⁾ ($\mu z/G^2$)
1	PEG-PBLA	DMF	31.2	446	0.27
2	PEG-PBLA	DMSO	53.4	552	0.30
3	PEG-P(C ₁₆ , BLA)	DMF	5.2	136	0.23
4	PEG-P(C ₁₆ , BLA)	DMSO	38.7	362	0.32

【0054】1) 5℃透過膜で透過後に測定された値
なお、上記の透過処理により、透明度の変化が観察されるように、表1に沈殿と記載された大きな粒子のかなりの部分が、除去されるようである。

【0055】(3)ブロックコポリマーに対するKRN5500の使用割合を、5、10および30重量%とし、PEG-P(C₁₆, BLA)を用いて薬物の封入試験を行った。結果を表3に示す。

【0056】

【表3】

表 3

実験 No.	KRN5500 (重量%)	溶媒	収率 ¹⁾ (%)	直径 ¹⁾ (nm)	分散指数 ²⁾ ($\mu z/G^2$)
1	5	DMF	66.8	267	0.22
2	5	DMSO	45.1	267	0.28
3 ²⁾	10	DMF	5.2	136	0.23
4 ²⁾	10	DMSO	38.7	362	0.32
5	30	DMF	0.7	115	0.22
6	30	DMSO	9.5	329	0.29

【0057】1) 5℃透過膜で透過後の測定値

2) 表2と同じ実験

例3: 大きな粒子の除去(音波処理)

透析処理により調製したKRN5500封入ポリマーミセル含有液50mlを、表3の実験No. 4と同様の条件で調製し、プローブ式ソニケーター(probe type son

icator) モデルVC100 (Sonic & Materials Inc., Connecticut, U.S.A.) の標準的な6mmプローブを備えた装置を用い、4℃で1秒間超音波照射および1秒間静置のサイクルで処理した。60分間まで超音波処理を行った結果を図1に示す。図1は、分散指数とともに、キムラントの平均直径が10分の超音波処理により、著しく低下することを示す。なお、この60分間の処理を行った場合も、KRN5500は全く分離することなく、処理によって得られた透明液に変化はみられなかった。

【0058】この透明液の粒子サイズ分布をマークワット (Marquadt) のヒストグラム法で解析した結果を、図2の(a)および(b)に示す。なお、散乱強度(ガンマ)分布により2つのピークがみられ、第一のピークは81nmにあり、第二のピークは390nmにある。(1μm以上の粒子は全く観察されなかった。) 第二のピークの大きな粒子は直径約200~800nmに起因

するミセルの凝集体(または会合体)とみなせるが、図2の(b)の重量分画分布(weight-fraction distribution)からみられるように、100nmを越える直径の粒子の割合は、ほんの8.2%にすぎない。この重量分画平均直径は、71nmである。

【0059】例4: 薬物としてKRN5500に代えカンプトセン (Camptothecin) を用いた薬物含有ポリマーミセルの調製

上記例2および3と同様のブロックコポリマーを用い、このポリマー(5.0mg)に対する薬物の使用量を10重量%(0.5mg)としたこと以外、上記例2および3を繰り返した。なお、例3に従う超音波処理は、例2に従って得られたキムラントのアリコートを使用して行った。結果を、表4に示す。

【0060】

【表4】

実験 No.	ポリマー	溶媒	封入された薬物 (μg)	キムラント平均粒径(nm)	超音波照射後の粒径(nm)
1	PEG-P(C16, BLA)	DMF	52	-	-
2	PEG-P(C16, BLA)	DMSO	157	2399	512
3	PEG-PBLA	DMF	18.5	-	-
4	PEG-PBLA	DMSO	164	4153	386

表 4

【0061】なお、超音波照射は5分間行ない、透析膜中のカンプトセン量は370nmにおける吸光度により測定し、そして粒径は動的光散乱法により決定した。

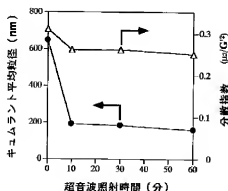
【0062】超音波処理により、薬物含有ポリマーミセルの粒径を有意に低減できることがわかる。

【図面の簡単な説明】

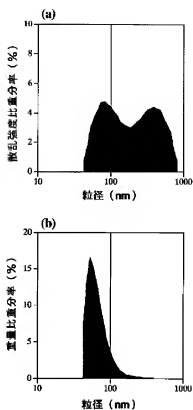
【図1】図1は例3におけるキムラントに超音波照射を行った場合の平均粒径と分散指数の変化を表すグラフである。

【図2】図2は超音波処理後(例3)の散乱強度分画と粒径の関係を表すグラフ(a)および重量分画と粒径の関係を表すグラフ(b)である。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(72)発明者 横山 昌幸
千葉県松戸市新松戸3-222 新松戸中央
プラザハイツ205

(72)発明者 片岡 一則
千葉県柏市大室1083-4 柏ビレジ141-
9